

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

Untersuchungen zur
Zytoprotektiven Wirkung des
Serotoninantagonisten R 41 468
auf die Magenschleimhaut des Menschen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Hanna Roßberg
geb. Dunkel
aus München

1903

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

Untersuchungen zur
Zytoprotektiven Wirkung des
Serotoninantagonisten R 41 468
auf die Magenschleimhaut des Menschen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Hanna Roßberg
geb. Dunkel
aus München

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf
Referent: Priv.-Doz. Dr. H. Ruppin
Korreferent: Prof. Dr. L. Demling
Tag der mündlichen Prüfung: 17.10.1983

Diese Arbeit widme ich in Dankbarkeit meinen Eltern.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

I Einleitung

II Material und Methoden

1. Probanden

2. Versuchsprotokoll

2.1 Beschreibung der Magensonde und ihrer Lage

2.2 Verfahren der Magenwaschung

2.3 Reihenfolge der Perioden

2.4 Verabreichung des Serotoninantagonisten R 41 468 und Entnahme von Blutproben

2.5 Kontrolle kardiovaskulärer Parameter

3. Testsubstanz

4. Chemische Analysen

4.1 Behandlung der gewonnenen Aspirate

4.2 Hydrolyse

4.3 Diphenylaminreaktion

5. Auswertung

5.1 Berechnung der Ergebnisse

5.2 Zubereitung der Plasmaproben

6. Statistik

7. Reagentien und Geräte

7.1 Reagentien

7.2 Geräte

III Ergebnisse

1. Versuche
2. Plasmaspiegel des Serotoninantagonisten R 41 468
3. Weitere Beobachtungen während der Versuche

IV Diskussion

1. Methodik
 - 1.1 Begründung des Versuchsprotokolls
 - 1.2 Ausschluß der Instillationsproben
 - 1.3 Die physikalisch-chemische Ausarbeitung
2. DNA
 - 2.1 Mögliche Erhöhung der DNA-Werte durch Verunreinigung
 - 2.2 Mögliche Verluste von DNA
3. Wirkungsweise des Serotoninantagonisten R 41 468
 - 3.1 Beschreibung des Serotoninantagonisten R 41 468 mit Hilfe von Serotonin und seinen Wirkungen
 - 3.2 Wirkungen des Serotoninantagonisten R 41 468 in Tiermodellen
 - 3.3 Wirkungen beim Menschen
 - 3.3.1 Hypnotischer Effekt
 - 3.3.2 Wirkungen auf Volumen- und Säuresekretion des Magens

3.3.3 Wirkungen auf die Ulkusheilung

3.3.4 Wirkungen auf die gastrale Potential-
differenz

4. Interpretation der Ergebnisse

4.1 Wirkungen des Alkohols auf die gastrale
Epithelabschilferungsrate

4.2 Die basale Epithelabschilferungsrate und
ihre Bedeutung

V Zusammenfassung

VI Literaturverzeichnis

VII Lebenslauf

I Einleitung

Trotz der Sekretion eines stark sauren, proteolytischen Magensaftes verdaut sich der Magen nicht selber. Dies beruht nach DEMLING (21) auf dem Gleichgewicht zwischen den aggressiven Kräften des Mageninhalts und den protektiven Potenzen der Magenschleimhaut. Zu den protektiven Fähigkeiten gehören die Bildung von Schleim, intakte Blutversorgung der Mukosa, Regenerationsvermögen der Magenschleimhautzellen und Neutralisation des aggressiven Magensaftes durch Mund- und Bauchspeichel sowie die alkalische Komponente des Magensekrets ("nonparietal cell secretion"). Diesen defensiven Faktoren steht in der Hauptsache die Salzsäure des Magensaftes, aber auch Pepsine, Gallensäuren, Lysocym und Pankreasfermente gegenüber. Darüber hinaus fügt der Mensch seinem Magen auch mutwillig durch Ingestion von schädigenden Stoffen wie Alkohol und Acetylsalicylsäure Schaden zu (33). Überwiegen diese aggressiven Faktoren oder sind die protektiven Fähigkeiten der Schleimhaut herabgesetzt, so entstehen Magenschleimhautläsionen wie Blutungen, Erosionen oder gar Ulcera. Aber auch emotionale Erregungen wie Streß, Ärger und Zorn gehen mit einer Hyperämie und Hypersekretion von salzsaurem Magensaft einher und begünstigen somit die Entstehung peptischer Magenschleimhautläsionen (58).

Zur Verhinderung ulzeröser Läsionen gilt es, entweder die Säuresekretion des Magens zu hemmen oder die protektiven Kräfte der Magenschleimhaut zu stärken. Für die erste Gruppe stellvertretend sollen die Histamin- H_2 -Rezeptorantagonisten Cimetidin und Ranitidin Erwähnung finden. Für die letzte seien Carbenoxolon-Natrium und Prostaglandine erwähnt (44). Am eindrucksvollsten ist die schleimhautschützende Wirkung von Prostaglandinen im Tierversuch: ROBERT machte diesbezüglich Versuche mit Ratten. Er gab ihnen absoluten Alkohol, konzentrierte Säure oder Lauge und kochendes Wasser. Die eine Gruppe behandelte er vorher mit verschiedenen Prostaglandinen in Dosierungen, die keine säuresekretionshemmenden Effekte hatten. Die andere Gruppe erhielt keine Vorbehandlung. Im Gegensatz zu diesen unbehandelten Tieren, bei denen starke Zerstörungen der Magenschleimhaut zu sehen waren, fand ROBERT bei den vorbehandelten Tieren eine nahezu unbeschädigte Schleimhaut und Submukosa des Magens (42).

Die Fähigkeit, Zellen vor der Zerstörung durch nekrotisierende Substanzen zu schützen, nennt man Zytoprotektion (39). Dazu ist besonders betontenswert, daß dieser Schutzmechanismus nicht auf einer Verminderung der



aggressiven Salzsäure beruhen darf, wenn er die Bezeichnung "Zytoprotektion" rechtfertigen soll.

Ähnliche Versuche mit Ratten machten AWOUTERS et al (2,3) und VAN REEMPTS (55). Sie schädigten ihre Versuchstiere mit der Substanz 48/80, die vasoaktive Amine, wie Histamin und Serotonin, aus körpereigenen Vorräten freisetzt. Ratten, denen diese Substanz injiziert worden war, entwickelten zunächst eine Hyperämie, später Ischämie und schließlich Gewebsinfarzierungen im Bereich des Gastrointestinaltraktes. Die Gewebeläsionen im Magen wurden durch die lokalen aggressiven Faktoren verstärkt. Wurden die Versuchstiere mit R 41 468, einem Serotoninantagonisten vorbehandelt, so waren keine Läsionen des Magens zu beobachten. Ebenso wurde der Magen bei Serotonininjektionen (3, 56), 50% Äthanol intraperitoneal (54) und oralen Gaben von Galle (47) durch Vorbehandlung mit R 41 468 geschützt.

VAN CAUTEREN versetzte Schweine in Stressituationen, indem er sie hungern ließ und mit vielen anderen Tieren dicht gedrängt einschloß. Er verhinderte mit dem Serotoninantagonisten R 41 468 das Auftreten akuter Magengeschwüre, die ohne Vorbehandlung bei 34% der Tiere beobachtet wurden (51).

Die Ergebnisse dieser Tierexperimente legen es nahe, den Serotoninantagonisten R 41 468 in Form klinischer Prüfung bei gastrointestinalen Erkrankungen des Menschen einzusetzen. Erwartungsgemäß bewirkte die Substanz bei Patienten mit peptischen Ulcera, Gastritis, ulcerativer Kolitis und Dumping Syndrom Besserung der Symptome und Schmerzlinderung (1, 17, 18, 20, 22, 26, 29, 37).

Um Veränderungen im Magen wie z.B. Nekrose und Blutung zu verstehen, muß man sich zunächst über die Physiologie von Sekretion und Zellerneuerung informieren. Wie für alle Schleimhäute, so ist auch für die des Magens eine schnelle Zellerneuerung und somit ein großer Epithelzellenumsatz charakteristisch (5, 6). Die Epithelien werden als unreife Zellen im Bereich der Drüsenhäuse (Leistenspitzen) gebildet und wandern von dort lumenwärts bis zur Magenschleimhautoberfläche. Während ihrer Wanderung reifen sie zu Superfizialzellen heran und werden später ins Lumen des Magens ausgestoßen (10, 35, 36).

Die Epithelzellenproduktion läßt sich durch Auszählen von Mitosen ermitteln. Im Tierversuch wird die Radioaktivität gemessen, die durch Einbau von markiertem Thymin in die DNA entsteht und die in ihrer Intensi-

tät mit der Zellneubildungsrate linear korreliert (10).

Für den Menschen entwickelten CROFT, POLLOCK und COG-HILL (13) eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Epithelzellabschilferungsrate. Sie beruht auf der Bestimmung von DNA-Phosphat in Magenwaschungen. Da jede menschliche Zelle die gleiche Menge an DNA enthält, kann man nach DAVIDSON und LESLIE (14) von der Menge der in der Spülflüssigkeit gefundenen DNA auf die Menge der verlorenen Zellen schließen.

Mit dieser Methode konnte gezeigt werden, daß beim Ulcus ventriculi (27) und bei übermäßigem Alkoholgenuß (34) der Epithelzellverlust über die normale basale Desquamationsrate ansteigt. Zytoprotektion kann man somit als Bewahrung des basalen Epithelzellumsatzes definieren.

In dieser Arbeit wird untersucht, ob der Serotonin-antagonist R 41 468 beim Menschen zytoprotektive Wirkungen auf die Magenschleimhaut besitzt. Dazu wurde das Verfahren von CROFT et al (13) benutzt.

II Material und Methoden

1. Probanden

Sieben freiwillige Probanden, zwei weiblichen, fünf männlichen Geschlechts, im Alter von 21 bis 28 Jahren, stellten sich für jeweils drei Untersuchungen zur Verfügung. Bei keinem der Probanden waren gastrointestinale Leiden bekannt oder Operationen am Magen vorausgegangen. Jeder Proband wurde über Art, Umfang und Ziel der Untersuchung und mögliche negative Begleiterscheinungen eingehend aufgeklärt und unterschrieb zuvor eine eigene dafür vorbereitete Einverständniserklärung.

2. Versuchsprotokoll

Die Probanden wurden an drei durch mindestens eine Woche voneinander getrennten Tagen untersucht. Damit wurde dem Magen die Möglichkeit zur Regeneration gegeben. Die Reihenfolge der Versuche war randomisiert worden. Die Probanden hatten zwölf Stunden vor dem Versuch nichts zu sich genommen und 24 Stunden vorher keinen Alkohol getrunken.

Das Versuchsprotokoll wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen am

1. September 1980 genehmigt.

2.1 Beschreibung der Magensonde und ihrer Lage

Zwei PVC-Sonden (Innendurchmesser je 4 mm) wurden mit Tetrahydrofuran so miteinander verbunden, daß die distale

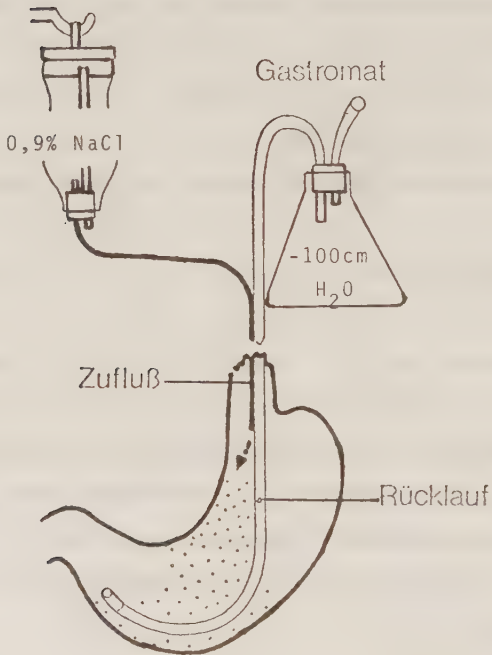


Abb.1: Versuchsanordnung der Magenwaschung

Mündung der einen 15 cm proximal von den seitlich mündenden Öffnungen der anderen lag. Die proximal mündende Sonde (Infusionsschlauch) diente der Infusion von isotoner Kochsalzlösung, durch die andere Sonde wurde der Mageninhalt aspiriert (Aspirationsschlauch). Nach dem Einführen der Sonde wurde die Spitze des Aspirationsschlauchs ins mittlere Antrum gelegt. Die exakte Lage im Antrum wurde mit Hilfe eines Führungsdrahtes röntgenologisch kontrolliert. In dieser Position befand sich die Öffnung des Infusionsschlauchs in Höhe der Kardie (Abb. 1).

2.2 Verfahren der Magenwaschung

Zunächst wurde das Nüchternsekret abgesaugt und anschließend mit physiologischer Kochsalzlösung in Portionen von 50 ml solange gespült, bis das Aspirat klar war. Die Instillation erfolgte durch den Infusionsschlauch, die Wiedergewinnung durch den Aspirationsschlauch.

Danach wurde 50 ml physiologische Kochsalzlösung instilliert, die eine halbe Stunde im Magen verblieb. Am Ende dieser Periode wurde der Mageninhalt mit einer 50 ml fassenden Plastikspritze aspiriert.

Anschließend wurde der Magen mit 1500 ml körperwarmer 0,9% NaCl-Lösung gespült. Die Waschlösung lief aus einer Infusionsflasche und ein Infusionssystem in den Infusionsschlauch und durch diesen in den Magen, benetzte die Schleimhaut des Korpus und Antrums und wurde über den Aspirationsschlauch simultan und kontinuierlich wieder abgesaugt. Die Zeit der Spülung bis zur Entleerung des Magens wurde notiert. Während der Spülungen wurden die Probanden aufgefordert, sich immer wieder von der linken auf die rechte Seite und zurück zu drehen, um einen gleichmäßigen Kontakt der Spülflüssigkeit mit allen Abschnitten der Magenwand zu gewährleisten.

2.3 Reihenfolge der Perioden

Die beschriebene Instillation von 50 ml 0,9% Kochsalzlösung und der Verbleib im Magen entspricht in den drei Versuchen der Periode 1 (Abb. 2-4), das Aspirat der Probe 1. Die darauffolgende erste Spülung mit 1500 ml physiologischer Kochsalzlösung wurde mit A bezeichnet (Abb. 2-4), die gewonnene Flüssigkeit ergab die große Probe A. Diese Einteilung trifft für alle drei Versuche in gleicher Weise zu. Es folgte die Periode 2, in der wiederum 50 ml 0,9% NaCl-Lösung instilliert und über

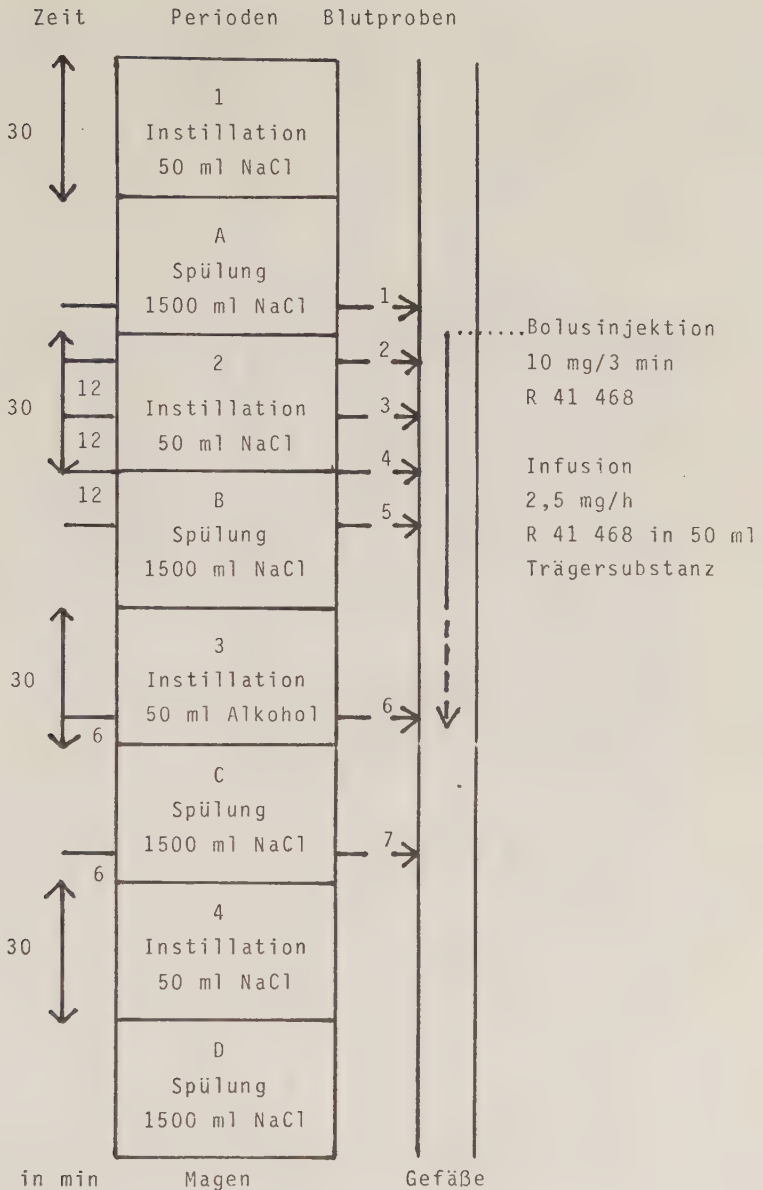


Abb.2: Versuchsablauf von Versuch I
Serotoninantagonist und Alkohol

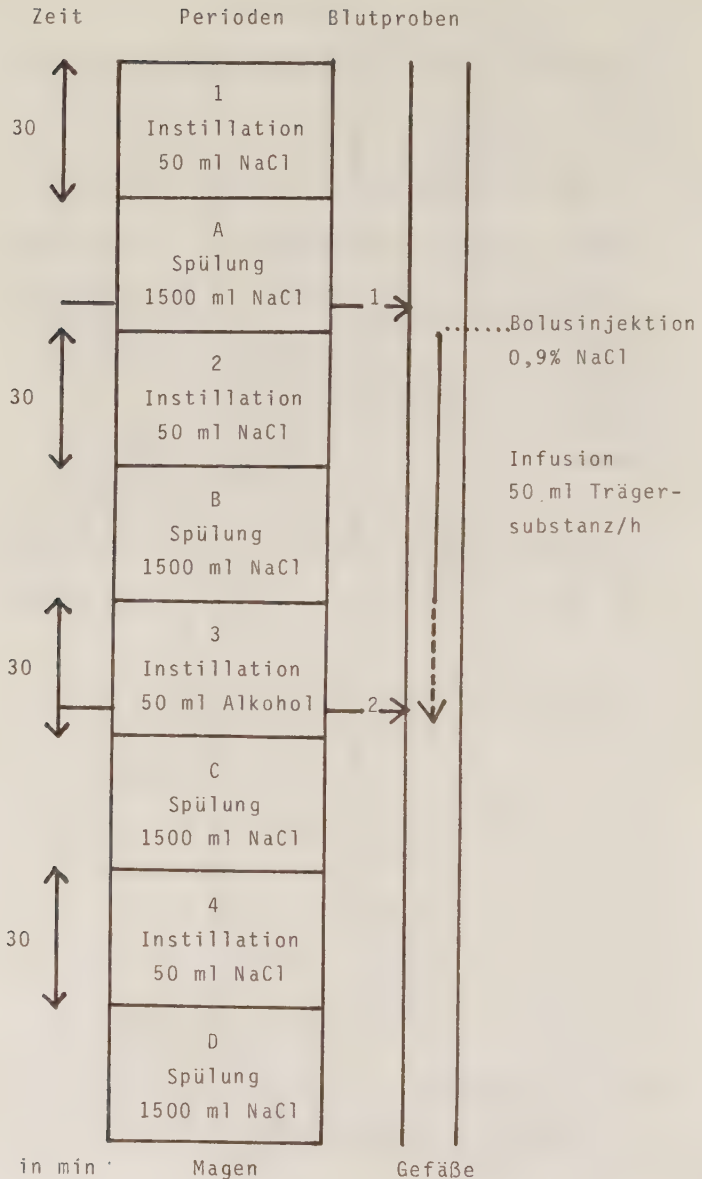


Abb.3: Versuchsablauf von Versuch II
nur Alkohol

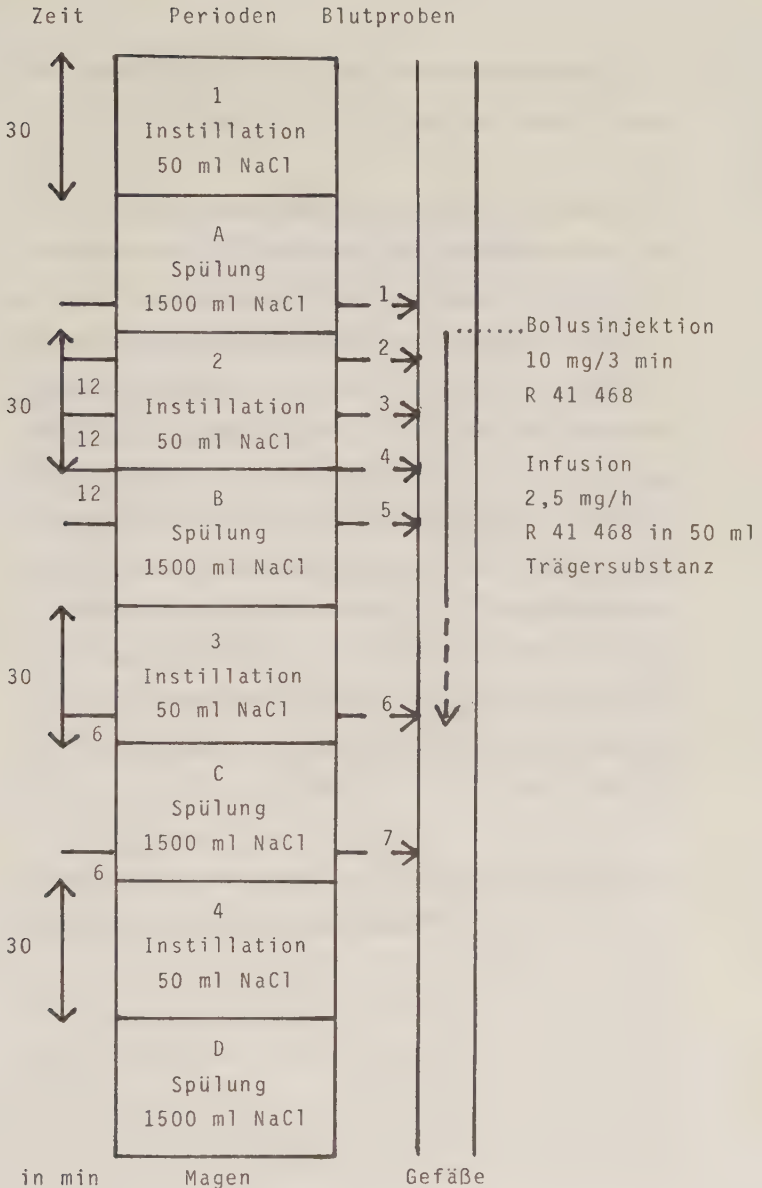


Abb.4: Versuchsablauf von Versuch III
Serotoninantagonist ohne Alkohol

eine halbe Stunde hinweg im Magen verblieb (Abb. 2-4).
Danach wurde die Magenwaschung B angeschlossen.

Technisch ist diese mit der Magenwaschung A und allen weiteren Magenwaschungen identisch. In der Periode 3 wurden in den Versuchen I (Abb.2) und II (Abb.3) 50 ml 40% Alkohol anstelle von physiologischer Kochsalzlösung instilliert und über eine halbe Stunde hinweg im Magen belassen; am Ende dieser Periode wurde der Mageninhalt reaspiriert (Abb.2 und 3). Im Versuch III (Abb. 4) wurde anstelle des Alkohols 0,9% Kochsalzlösung verwendet. Der Alkohol- bzw. Kochsalzkontrollperiode folgte die Magenwaschung C (Abb. 2-4). Im Anschluß an Magenwaschung C wurden wiederum 50 ml 0,9% NaCl-Lösung instilliert (Periode 4) und für eine halbe Stunde im Magen belassen. Daran schloß sich die Magenwaschung D an (Abb. 2-4).

In den Versuchen I und II wirkte also, im Gegensatz zu Versuch III, 40% Alkohol auf die Magenschleimhaut ein.

2.4 Verabreichung des Serotoninantagonisten R 41 468 und Entnahme von Blutproben

Vor der Periode 2, in der 50 ml 0,9% NaCl-Lösung eine halbe Stunde im Magen verblieb, wurde, nach einer Blutentnahme (1) in den Versuchen I und III, ein Bolus von 10 mg Serotoninantagonist R 41 468 innerhalb von drei Minuten intravenös injiziert (Abb. 2 und 4), während im Versuch II nach der Blutentnahme (1) physiologische Kochsalzlösung intravenös appliziert wurde (Abb.3). Der Untersucher (in jedem Fall ein approbierter Arzt), der die intravenöse Injektion von Serotoninantagonist bzw. Kochsalz durchführte, wußte nicht, welcher Versuch gerade stattfand. An die Injektion wurde eine Infusion angeschlossen, die im Versuch I (Abb.2) und III (Abb. 4) aus 2,5 mg des Serotoninantagonisten R 41 468 pro Stunde, gelöst in einem Gemisch aus Weinsäure, Dextrose, Propylenglycol und aqua destillata als Trägersubstanz bestand. Im Versuch II (Abb. 3) wurde die Trägersubstanz allein infundiert. Während der Infusion wurde alle 12 Minuten Blut entnommen (Blutproben (2) - (5), Abb.2 und 4). Den Abocath reinigte jedesmal eine vorherige Entnahme von 8 ml Blut. Im Versuch II (Abb.3) reichte eine zweite Blutentnahme - Blutprobe (2) - vor Infusionsende aus. Die Blutmengen

der einzelnen Entnahmen betrugen in jedem Fall 8 ml. Sechs Minuten vor Ende der Periode 3 wurde im Versuch I und III die 6. Blutprobe entnommen (Abb.2 und 4) und sechs Minuten vor Ende der Periode 4 die 7. Blutprobe (Abb.2 und 4).

2.5 Kontrolle kardiovaskulärer Parameter

Vor und kurz nach der Bolusinjektion des Serotonin-antagonisten R 41 468 bzw. der Kochsalzlösung wurden Blutdruck und Puls kontrolliert.

Die drei Versuche lassen sich zusammenfassend folgendermaßen charakterisieren: In Versuch I wird die Wirkung von Alkohol nach Vorbehandlung mit dem Serotoninantagonisten R 41 468 auf die Magenschleimhaut getestet (Abb.2), Versuch II stellt die Kontrolle dar, in welcher Alkohol ohne Vorbehandlung zur Wirkung kommt (Abb.3) und Versuch III untersucht das Verhalten der intakten Schleimhaut unter Einwirkung des Serotoninantagonisten R 41 468 allein (Abb.4).

3. Testsubstanz

Bei der in den Versuchen verwendeten Substanz handelt es sich um ein Präparat der Firma Janssen mit der Seriennummer R 41 468. Der exakte chemische Name lautet: 3-(2-(4-(4-Fluorbenzoyl)-1-Piperidiny1)-äthyl) 2,4(1H,3H)-quinazolin-1,3-dion (32). Siehe Abb.5.

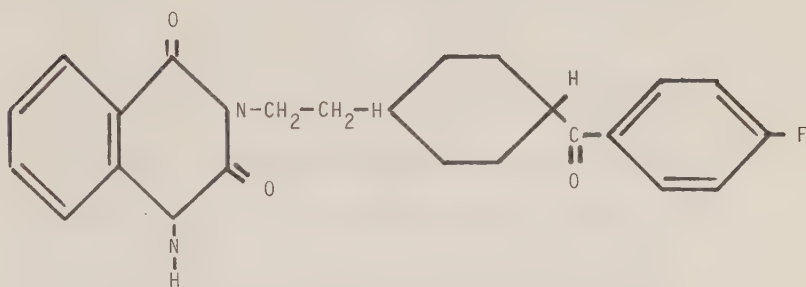


Abb.5: Strukturformel des Serotoninantagonisten
R 41 468

Nach in vitro Studien handelt es sich um einen reinen, selektiven und spezifischen Serotoninantagonisten, der auf den 5-HT₂ Rezeptor wirkt. Serotonin (5-Hydroxytryptamin = 5-HT) bewirkt, indem es sich an den 5-HT₂ Rezeptor bindet, seine pharmakologischen Wirkungen im Organismus. Im Gegensatz dazu wird von PEROUTKA und

SYNDER ein 5-HT₁ Rezeptor beschrieben (41).

Die fertige Lösung enthält pro ml 5 mg Serotonin-antagonist R 41 468.

4. Chemische Analysen

4.1 Behandlung der gewonnenen Aspirate

Um die Selbstauflösung der Zellen in den Proben durch Bestandteile des Magensaftes zu verhindern, wurde das Aspirat in einer eisgekühlten Plastikflasche aufgefangen, mit 0,1 M EDTA-Lösung (pH 8, 5 ml/100 ml Aspirat) (40), Rinderalbumin (0,15 ml/100 ml Aspirat) und - nach kräftigem Schütteln - mit 50% Trichloressigsäure (10 ml/100 ml Aspirat) versetzt. Anschließend wurden die Proben für mindestens 7 Tage tiefgefroren, um die Sedimentation der Magenzellen zu verbessern.

4.2 Hydrolyse

Die Proben wurden über Nacht oder im Wasserbad von 37°C aufgetaut (Abb.6). Es folgte eine Zentrifugation bei 4°C und 3000 Rpm. Der Überstand wurde verworfen und der Niederschlag mit 5% Trichloressigsäure (100 ml bei den

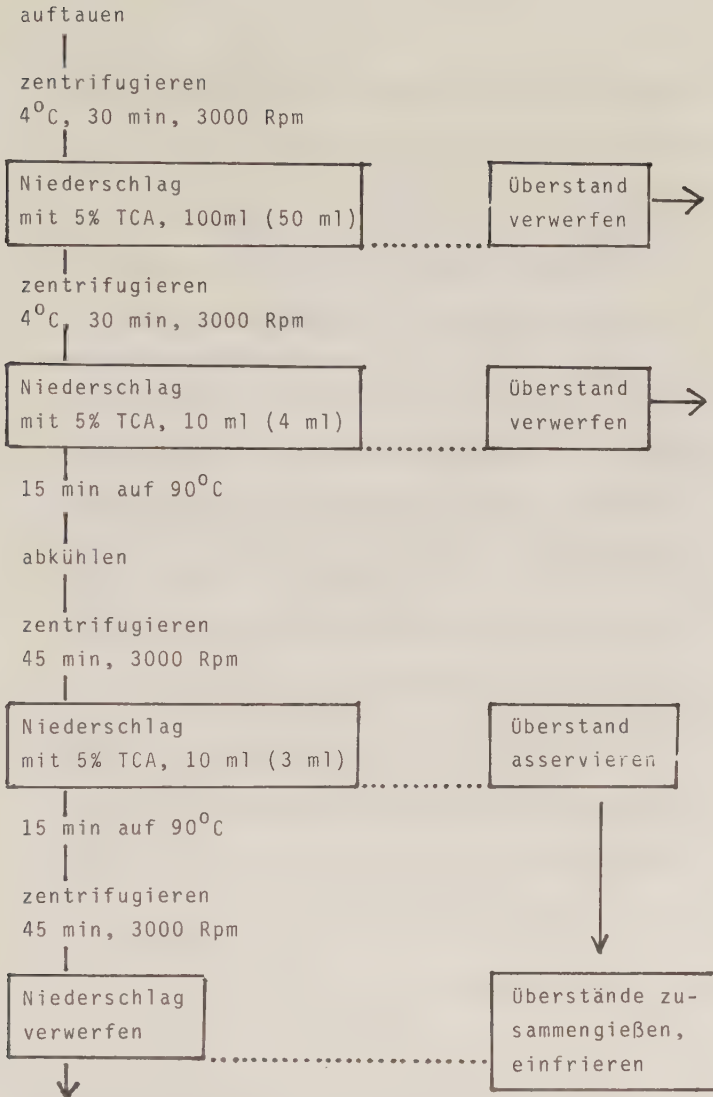


Abb.6: Hydrolyse der DNA. Menge für die kleinen
Proben in Klammer

Proben A bis D, 50 ml bei den Proben 1 bis 4) versetzt, aufgerührt und erneut 30 Minuten bei 4°C und 3000 Rpm zentrifugiert. Wiederum wurde der Überstand dekantiert, der Niederschlag mit 5% Trichloressigsäure versetzt (10 ml bei den Proben A bis D, 4 ml bei den Proben 1 bis 4). Um die DNA aus den im Niederschlag enthaltenen Zellen zu lösen, wurde dieser 15 Minuten lang bei 90°C im Wasserbad hydrolysiert und nach Abkühlung auf Zimmertemperatur 45 Minuten bei 3000 Rpm zentrifugiert. Der Überstand, in welchem nun gelöste DNA enthalten war, wurde asserviert, der Niederschlag einer zweiten Hydrolyse zugeführt. Dazu wurden die Proben A bis D mit je 10 ml 5% Trichloressigsäure, die Proben 1 bis 4 mit je 3 ml Trichloressigsäure versetzt und 15 Minuten bei 90°C im Wasserbad gehalten. Nach der Abkühlung auf Zimmertemperatur wurden die Proben nochmals 45 Minuten bei 3000 Rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde zu dem aus der ersten Hydrolyse geschüttet und für mindestens 7 Tage eingefroren (siehe Abb.6).

4.3 Diphenylaminreaktion

Zur Vorbereitung für die Diphenylaminreaktion wurden die aufgetauten Proben erneut bei 3000 Rpm 30 Minuten

lang zentrifugiert und der Überstand gewonnen. 2 ml des Hydrolysats wurden mit 0,2 ml 60% Perchlorsäure und mit 2 ml 2% Diphenylaminreagenz versetzt. Das Diphenylaminreagenz besteht aus 1 g Diphenylamin aufgelöst in 40 ml Eisessig und 1 ml konzentrierter Schwefelsäure auf 50 ml mit Eisessig aufgefüllt und mit 0,25 ml 2% Acetaldehydlösung versetzt (8). Das Diphenylaminreagenz reagiert mit dem Phosphat-Anteil der DNA unter Bildung eines blauen Farbstoffes. Ein DNA-Standard mit Konzentrationen von 5 μ l bis 100 μ l DNA und ein Leerwert (2 ml 5% TCA, 0,2 ml Perchlorsäure, 2 ml Diphenylaminreagenz) wurden mit angesetzt. Der DNA-Standard wurde aus 3 ml einer Stammlösung (30 mg DNA in 30 ml aqua bidestillata, 3 Tage lösen), 3 ml 3,5% Perchlorsäure und Hydrolyse der Lösung bei 90°C hergestellt. Alle Ansätze wurden 48 Stunden im Eisschrank aufbewahrt, danach die Extinktion bei 600 nm gegen den Leerwert gemessen (8).

5. Auswertung

5.1 Berechnung der Ergebnisse

Aus dem DNA-Standard wurde eine Eichkurve erstellt, aus der die Menge der DNA in der Probe direkt abgelesen

werden konnte. Siehe Abb. 7.

Extinktion
bei 600 nm

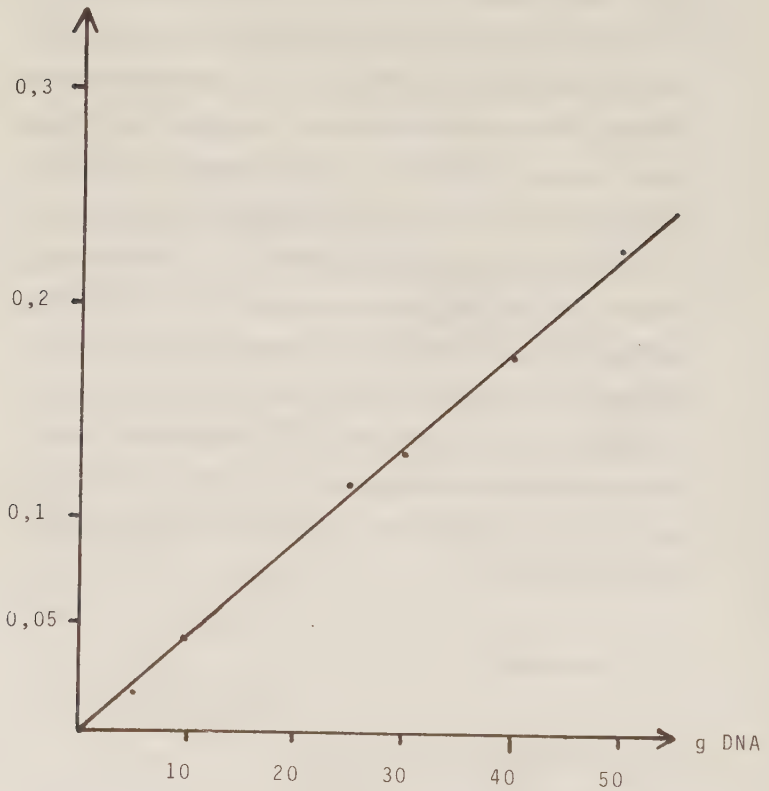


Abb.7: Eichkurve der DNA-Bestimmung

Mit der Menge an DNA in der Probe konnte der DNA-Umsatz pro Minute mit folgender Formel berechnet werden:

$$\frac{\text{instilliertes Volumen} \times \text{Verdünnung} \times \text{Menge an DNA (} \mu\text{g)}}{\text{gewonnenes Volumen} \times \text{Zeit für die Spülung in Minuten}}$$

Diese Werte mit der Benennung $\mu\text{g DNA/min}$ wurden mit Hilfe der relativen Atommasse von Phosphat und dem Anteil von Phosphat in der DNA auf die Endwerte mit der Benennung $\text{ng-Atome DNA-P/min}$ umgerechnet.

5.2 Zubereitung der Plasmaproben

Aus jeder Blutprobe wurde nach Ende des Versuchs durch Zentrifugation (10 min, 80 Rps) Plasma gewonnen, welches bis zur weiteren Analyse eingefroren wurde. Die Bestimmung des Serotoninantagonistenspiegels im Plasma (Radioimmunoassay) wurde vom R.Woestenborghs Department of Drug Metabolism im Auftrag der Firma Janssen durchgeführt.

6. Statistik

Die Meßergebnisse wurden auf Normalverteilung mit Hilfe des von KOLOGOROFF und SMIRNONS angegebenen Verfahrens getestet (9). Mittelwerte, Standardabweichung und SEM

(mittlerer Fehler des Mittelwertes) wurden mit konventionellen Formeln berechnet und die Ergebnisse als Mittelwert $\pm$ SEM ausgedrückt. Zur Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede wurde der t-Test nach STUDENT für paarweise Analysen verwendet (9). Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,05$ wurde für statistisch gesicherte Unterschiede gefordert.

7. Reagentien und Geräte

7.1 Reagentien

Äthylendiamintetraessigsäure	Serva Feinbiochemica, Heidelberg
Trichloressigsäure	Merck, Darmstadt
Serum-Albumin 30% vom Rind	Behringwerke, Marburg
Desoxyribonucleinsäure aus Kälberthymus	Serva, Heidelberg
Schwefelsäure	Merck, Darmstadt
Perchlorsäure	Merck, Darmstadt
Acetaldehyd	Merck-Schuchardt, Hohenbrunn
Diphenylamin	Serva, Heidelberg
Essigsäure	Merck, Darmstadt
Tetrahydrofuran	Fisher Scientific Company Fair Lawn, New Jersey

Kochsalz 0,9%	Pfrimmer & Co., Erlangen
Trägersubstanz (= Weinsäure 3 mg, Dextrose 50 mg, Propylenglydol 0,05 mg, aqua ad 1 ml)	Apotheke der klinischen Universitätsanstalten, Erlangen

7.2 Geräte

Dauerinfusionsgerät Perfusor	Braun, Melsungen
Kühlzentrifuge	Heraeus Christ, Osterode
Zentrifuge V 3	Heraeus Christ, Osterode
Eismaaschine	Inco-Ziegra, Hannover
Waagen	Satorius, Göttingen
Gastromaten	Oehler u. Braun, Stuttgart; Hirtz & Co., Köln
Wasserbad	Kottermann, Hänigsen
Photometer	Beckman, Harbor USA
Zentrifuge Universal 2	Hettich, Tuttingen
Mechanische Pipetten	Eppendorf, Hamburg

III Ergebnisse

1. Versuche

Alle Probanden überstanden die Versuche komplikationslos. Einer der Versuche mißglückte aufgrund einer Verstopfung der Sonde durch schwer verdauliche Speisereste und mußte daher wiederholt werden.

Die Zelldesquamationen verringerten sich im Durchschnitt bei der Spülung B im Vergleich zur Spülung A im Versuch I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) um 11,1 ng Atome DNA-P pro min und im Versuch III (nur Serotoninantagonist R 41 468) um 34,6 ng Atome DNA-P pro min (siehe Tab.1). Diese Änderung war nur im Versuch III (nur Serotoninantagonist R 41 468) statistisch signifikant ($p < 0,025$). Im Versuch II (nur Alkohol) blieb die Rate während der Spülungen A und B annähernd gleich (A: 58,5 ng Atome DNA-P pro min, B: 57,3 ng Atome DNA-P pro min). Die Zellumsatzraten der Instillationsphasen senkten sich ebenfalls in den Perioden 2.

Beim Vergleich der Spülungen B und C, zwischen denen in den Versuchen I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) und II (nur Alkohol) die Noxe Alkohol auf die Schleimhaut gewirkt hatte, zeigte sich ein signifi-

	<u>Versuch I</u>	<u>Versuch II</u>	<u>Versuch III</u>
A	50,5 $\pm$ 4,3	58,5 $\pm$ 10,7	71,4 $\pm$ 15,1
B	39,4 $\pm$ 5,4	57,3 $\pm$ 9,1	36,8 $\pm$ 10,3
C	84,6 $\pm$ 18,7	141,4 $\pm$ 27,6	65,4 $\pm$ 21,0
D	82,9 $\pm$ 22,6	93,9 $\pm$ 17,9	69,3 $\pm$ 13,0
1	59,3 $\pm$ 15,6	45,2 $\pm$ 9,2	36,6 $\pm$ 7,0
2	17,8 $\pm$ 4,2	34,2 $\pm$ 12,6	20,8 $\pm$ 5,5
3	77,7 $\pm$ 34,0	55,1 $\pm$ 20,5	29,1 $\pm$ 12,6
4	107,9 $\pm$ 21,1	65,4 $\pm$ 19,7	76,3 $\pm$ 23,3

Tab.1: Zellumsatzraten, Mittelwerte mit SEM
in ng Atome DNA-P/min

kanter Anstieg der Zellabschilferungsrate. In Versuch I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) stieg die Rate durchschnittlich um 45,2 ng Atome DNA-P pro min (signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$); in Versuch II (nur Alkohol) stieg der Zellumsatz um 84,1 ng

Atome DNA-P pro min an, was mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,025$ signifikant ist. Auch im Versuch III (nur Serotoninantagonist R 41 468) sowie während der Instillationsperioden 2 und 3 in allen Versuchen, ergab sich ein Anstieg der Zellrate, der aber in Versuch III (nur Serotoninantagonist R 41 468) ebenfalls am geringsten war. Bei den letzten Spülungen (D) fanden sich in den Versuchen I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) und III (nur Serotoninantagonist R 41 468) annähernd die Werte der Spülung C. Siehe Tab. 1. Im Gegensatz dazu fiel im Versuch II (nur Alkohol) die Zellrate der Periode D im Vergleich zu der hohen Umsatzrate während der Spülung C um 47,5 ng Atome DNA-P pro min. Die Zelldesquamationen der Instillationsphasen stiegen bei der 4. Phase generell an. Die graphische Darstellung der Ergebnisse mit Mittelwert und SEM zeigen die Abb. 8, 9 und 10.

Die oben beschriebenen Tendenzen der Durchschnittswerte lassen sich bei den einzelnen Probanden nur zum Teil so deutlich veranschaulichen. Abb. 11 und 12 zeigen die Zellumsatzraten der drei Versuche bei den sechs Probanden während der Spülungen und der Instillationsperioden.

ng Atome DNA-P/min

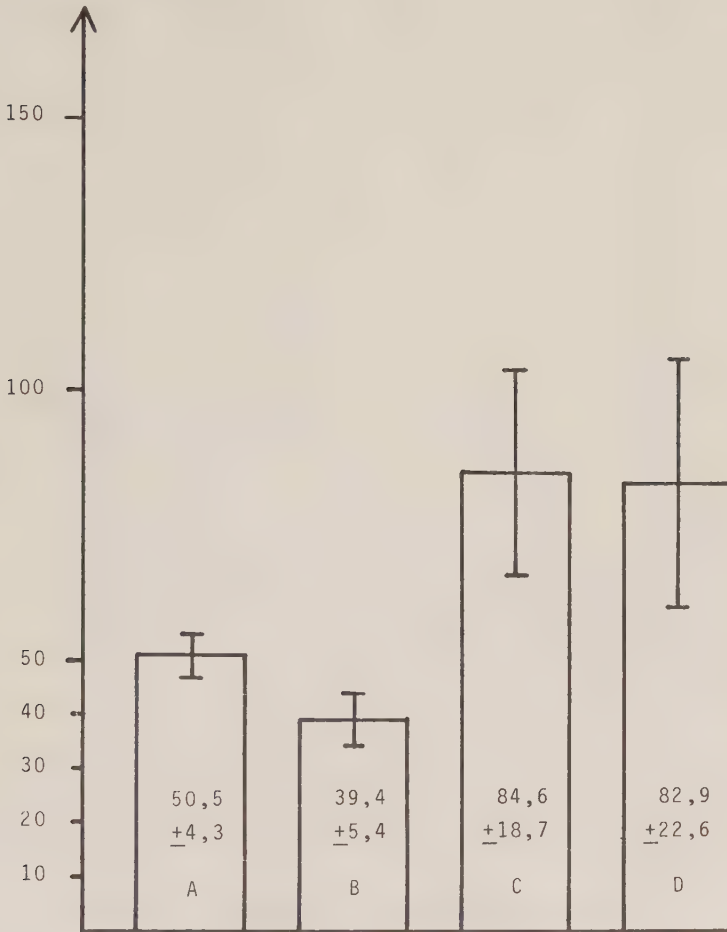


Abb.8: graphische Darstellung der Desquamationsrate mit Mittelwert und mittlerem Fehler des Mittelwertes von Versuch I

ng Atome DNA-P/min

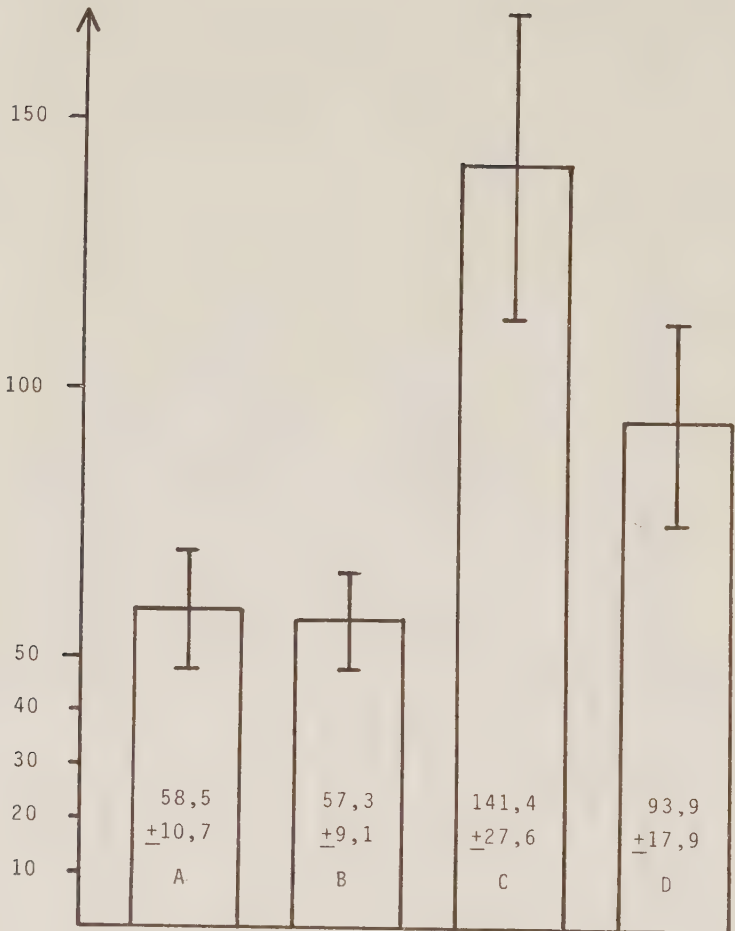


Abb.9: graphische Darstellung der Desquamationsrate mit Mittelwert und mittlerem Fehler des Mittelwertes von Versuch II

ng Atome DNA-P/min

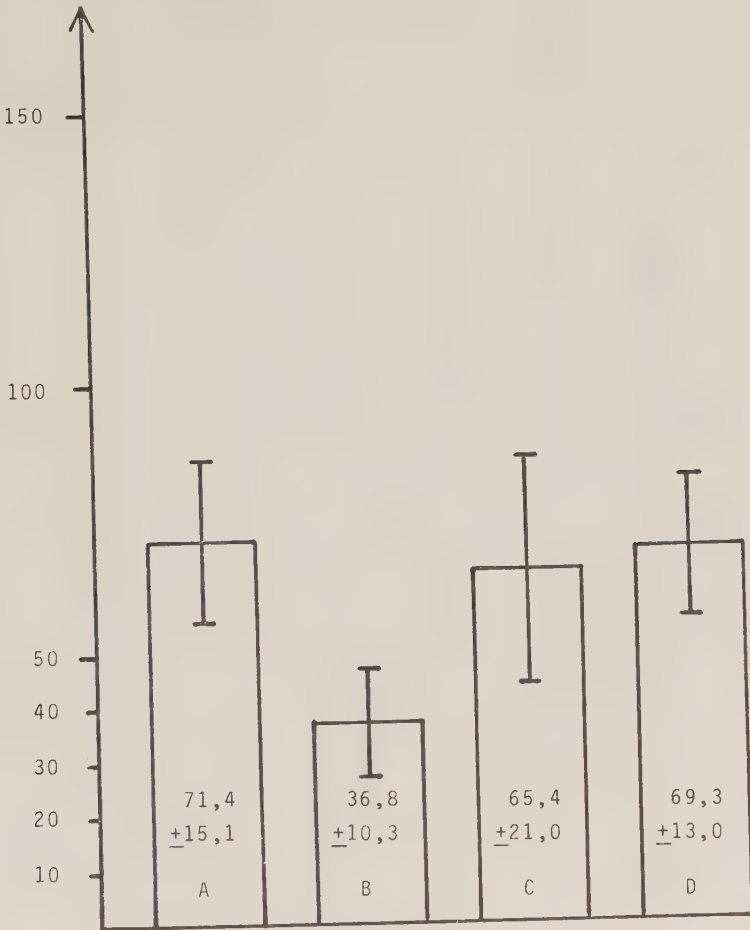


Abb.10: graphische Darstellung der Desquamationsrate mit Mittelwert und mittlerem Fehler des Mittelwertes von Versuch III

ng Atome DNA-P/min

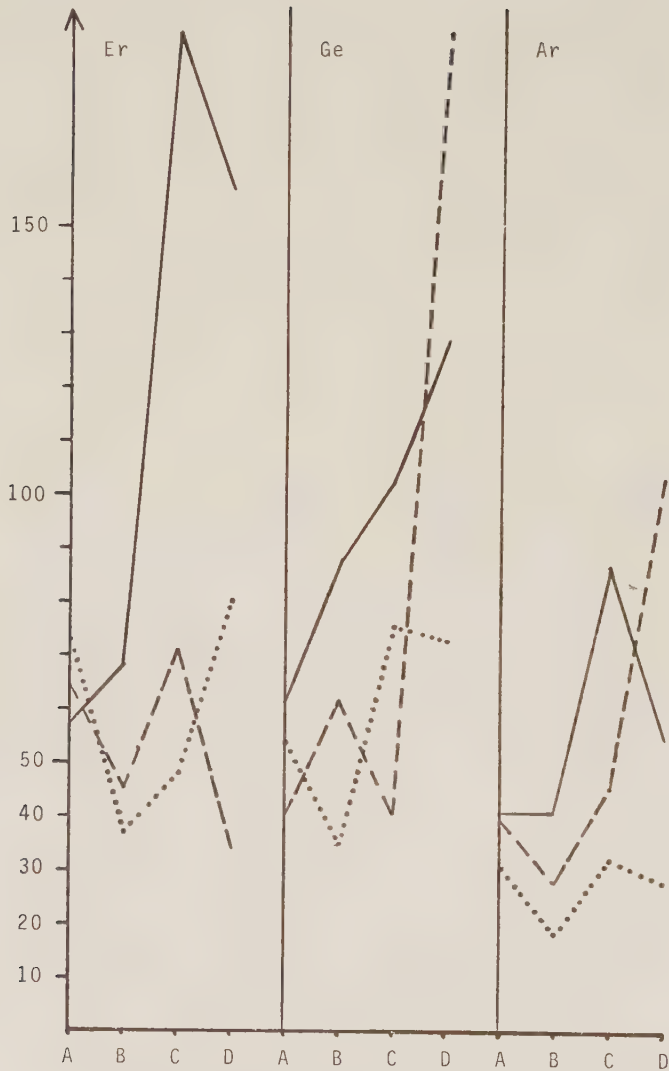


Abb.11a: Zellumsatzraten bei den Probanden Er., Ge. und Ar., Spülungen

Versuch I - - - - -

Versuch II —————

Versuch III

ng Atome DNA-P/min

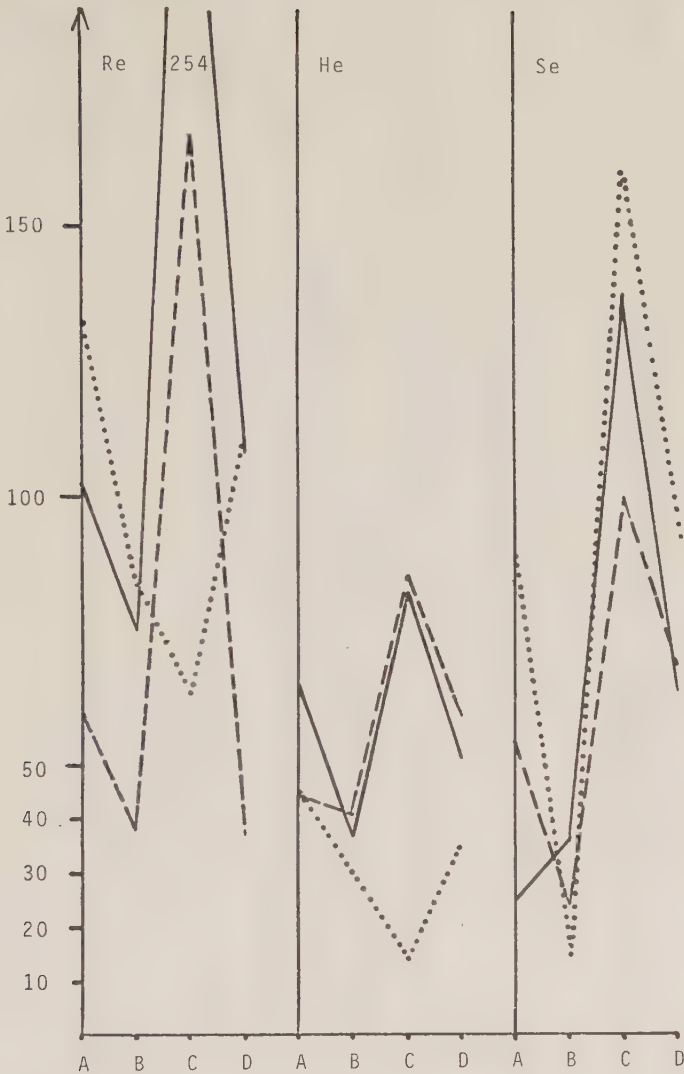


Abb.11b: Zellumsatzraten bei den Probanden Re.,
He. und Se, Spülungen
Versuch I - - - - -
Versuch II ————
Versuch III ······

ng Atome DNA-P/min

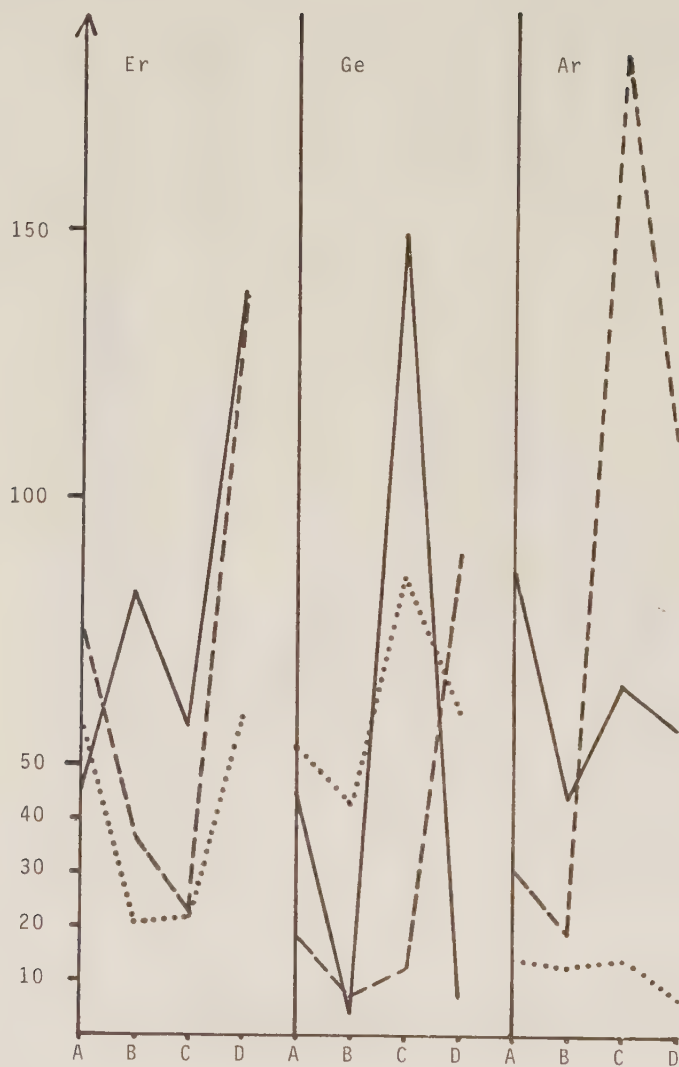


Abb.12a: Zellumsatzraten bei den Probanden Er.

Ge. und Ar., Instillationen

Versuch I -----

Versuch II —————

Versuch III

ng Atome DNA-P/min

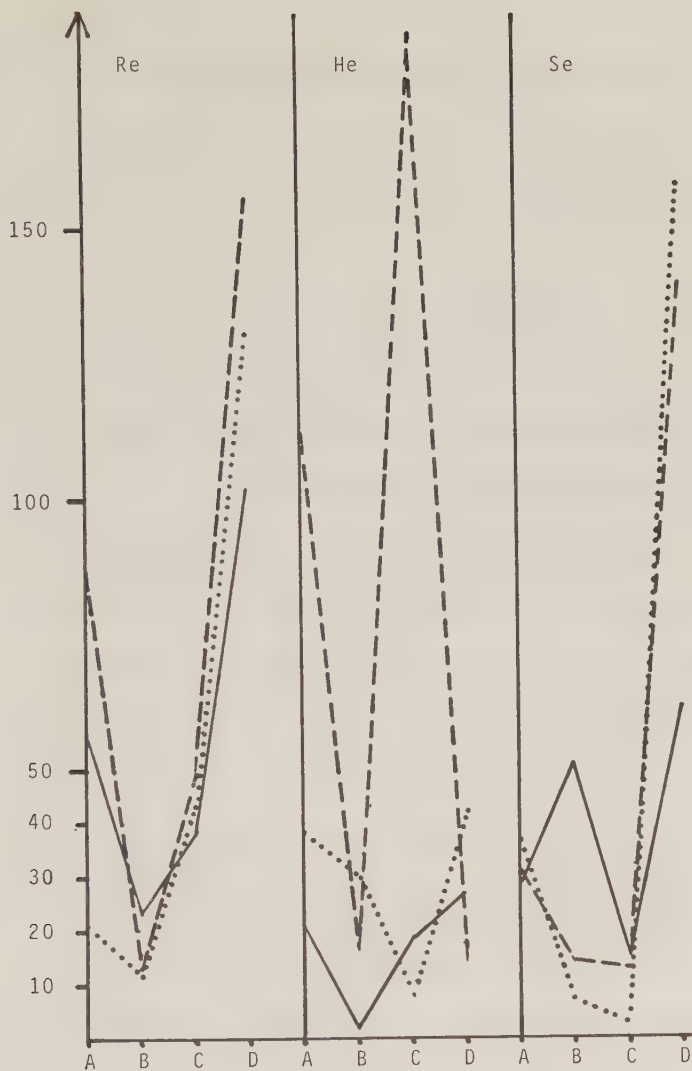


Abb.12b: Zellumsatzraten bei den Probanden Re.

He. und Se., Instillationen

Versuch I — — — —

Versuch II —————

Versuch III

2. Plasmaspiegel des Serotoninantagonisten R 41 468

Die Plasmaspiegel von R 41 468 sind in den Tabellen 2 und 3 aufgeführt.

Vor der Bolusinjektion lagen die basalen Serotoninantagonistenspiegel im Plasma hauptsächlich unter 10 ng/ml. Dies entspricht offenbar der Ungenauigkeit der Meßmethode. Nach der Bolusinjektion der Versuche I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) und III (nur Serotoninantagonist R 41 468) und während der Infusion (Blutproben (2) bis (5)) ergaben sich im Durchschnitt Plasmaspiegel von 100 ng/ml und mehr. Auch die Spitzenwerte fanden sich in dieser Periode. Nach Beendigung der Infusion fielen die Werte mit der Zeit ab (Proben (6) und (7)).

Die Abb. 13 und 14 zeigen die Verlaufskurven anhand von Mittelwerten $\pm$ Standardabweichung. Im Gegensatz zu den Versuchen I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) und III (nur Serotoninantagonist R 41 468) kam es in den Kontrollversuchen II (nur Alkohol) erwartungsgemäß zu keinem Anstieg des Plasmaspiegels, da hier nur die Trägersubstanz verabreicht worden war (siehe Tab. 2).

	Versuch I							Versuch II	
	1	2	3	4	5	6	7	1	2
Ge	8,4	276	163	137	238	118	53	0,1	0,1
Se	2,3	147	249	214	93	56	46	0,1	0,1
Re	0,4	118	187	177	132	55	33	0,1	0,1
Er	3,3	413	100	91	276	47	37	0,1	0,1
He	5,3	238	148	212	214	63	43	0,1	0,1
Ar	1,0	622	244	854	216	86	50	0,1	0,1

Tab.2: Plasmaspiegel von R 41 468 in ng/ml von
Versuch I und Versuch II

	Versuch III						
	1	2	3	4	5	6	7
Ge	0,4	129	127	91	96	70	45
Se	0,6	158	186	100	268	73	48
Re	0,6	322	214	306	710	354	56
Er	0,8	143	166	158	118	69	46
He	1,0	100	98	93	97	73	63
Ar	70	535	308	486	212	92	79

Tab.3: Plasmaspiegel von R 41 468 in ng/ml von
Versuch III

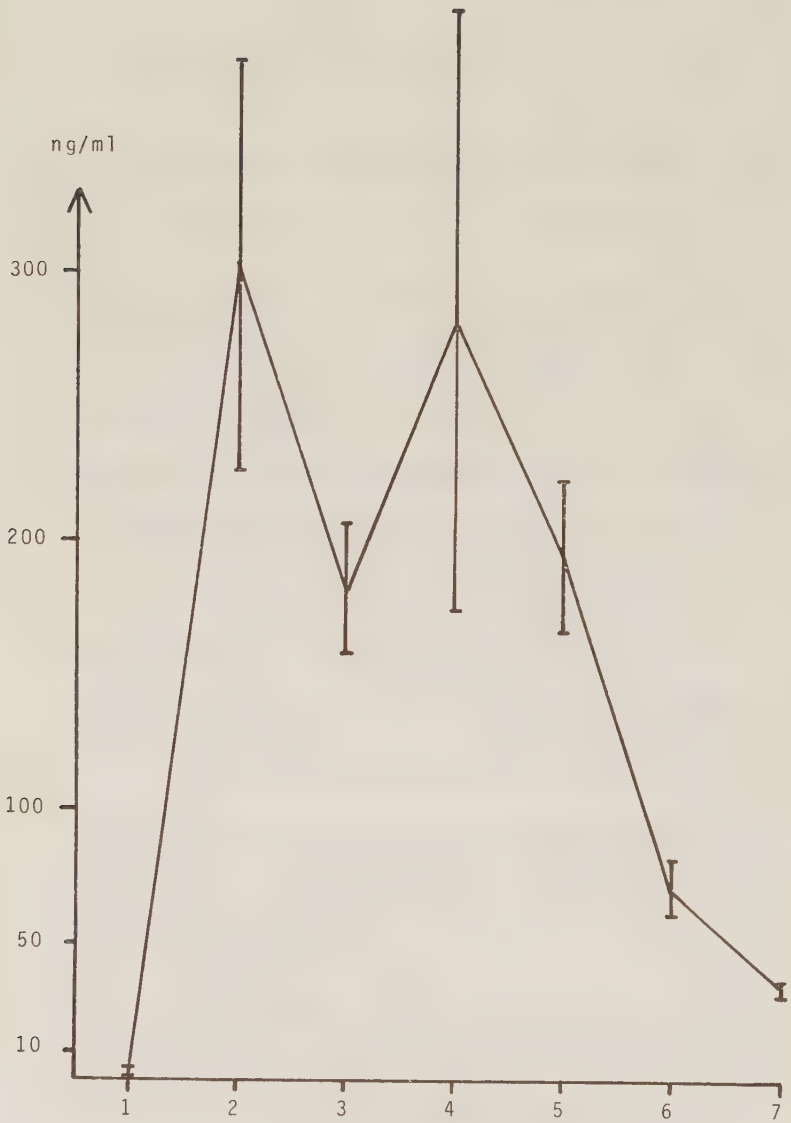


Abb.13: Verlaufskurve der Plasmaspiegel im Versuch I, Mittelwerte mit Standardabweichung

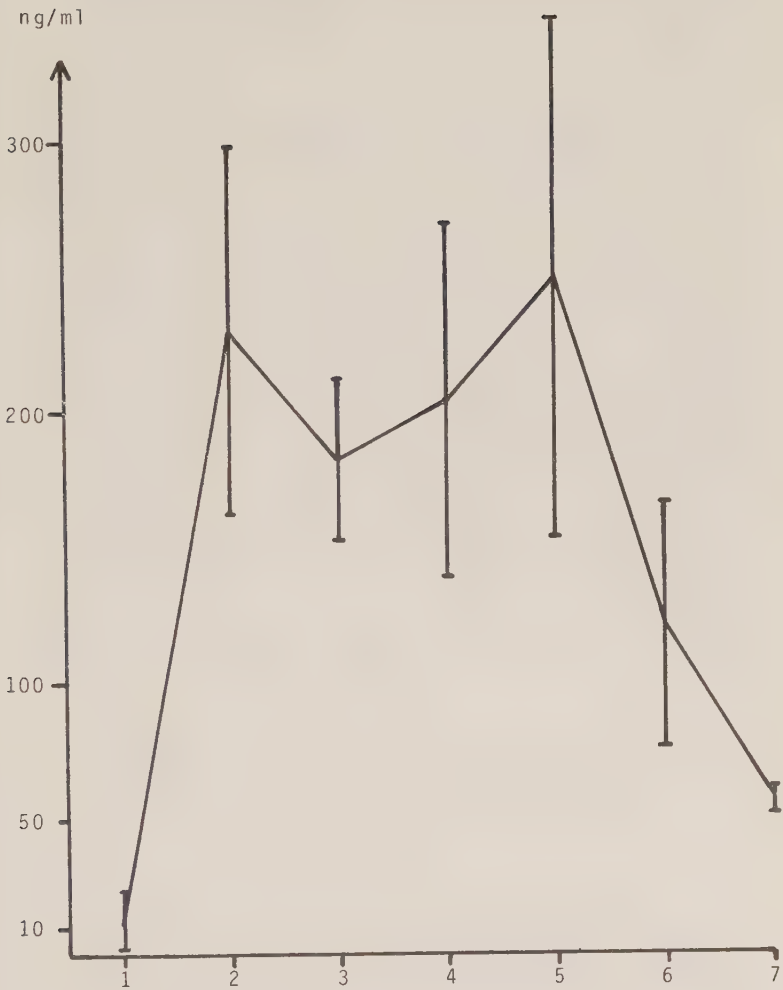


Abb.14: Verlaufskurve der Plasmaspiegel im Versuch III, Mittelwerte mit Standardabweichung

Bei genauerer Betrachtung der Werte ergaben sich keine systematischen Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden.

3. Weitere Beobachtungen während der Versuche

Blutdruck			Puls		
vorher	-	nachher	vorher	-	nachher
120/90	-	120/90	64	-	68
120/80	-	120/80	64	-	68
120/90	-	120/70	52	-	60
120/80	-	110/70	68	-	68
120/90	-	110/90	52	-	52
120/80	-	110/70	76	-	72
110/80	-	90/70	76	-	52
110/80	-	90/60			

Tab.4: Verhalten der Blutdruck- und Pulswerte vor und nach der Bolusinjektion des Serotoninantagonisten R 41 468

Bei einigen Probanden wurde der Blutdruck und der Puls vor und nach der Bolusinjektion von R 41 468 gemessen. Dabei fiel auf, daß sich der Blutdruck bei sechs von acht Messungen leicht senkte. Der Puls verhielt sich

unterschiedlich. Bei drei der sieben Messungen stieg er an, bei zwei blieb er gleich und bei zwei weiteren ging er zurück (siehe Tab. 4).

Besondere Erwähnung verdient die Beobachtung, daß die Probanden bei zehn von den zwölf Versuchen mit dem Serotoninantagonisten R 41 468 nach der Bolusinjektion "einschliefen" oder zumindest von sich aus ein starkes, aber angenehmes Gefühl der Müdigkeit angaben. Dies fiel bei den Placeboversuchen nur in einem der sechs Untersuchungen auf. Der Zustand des Schlafens hielt eine halbe bis eine dreiviertel Stunde an. Schlafende Probanden wachten jedoch jeweils auf Rütteln hin auf und waren sofort voll ansprechbar. Einige berichteten, nach Abschluß des Versuchs zu Hause nochmals mehrere Stunden geschlafen zu haben.

IV Diskussion

1. Methodik

1.1 Begründung des Versuchsprotokolls

Zur Absaugung des Nüchternmagensekrets, zur Gewinnung der kleinen Proben und zu den Spülungen wurde die Placierung der Sondenspitze im Antrumbereich gewählt. Diese Methode, die für den Probanden relativ angenehm ist, erfordert nicht die schwer durchführbare Inversion des Schlauches, wie sie bei der Placierung im Fundusbereich nötig ist (28).

Der Durchtritt des Sondenendes durch den Pylorus wurde weitgehend durch röntgenologische Kontrolle der Magensondenposition, Streckung und Fixierung der Sonde im Mundwinkel vermieden (23).

Die bei der Anwendung der Sondentechnik eventuell eintretenden, sogbedingten Aciditäts- und Sekretionsveränderungen, hervorgerufen durch den Kontakt des Schlauches mit der Magenwand, wie sie von SCHLOTTHAUER und MÖLLER beschrieben wurden, sind nicht auszuschließen (45).

Leichtes Bespülen der Magenschleimhaut bewirkt, daß nur die abgestoßenen Zellen weggeschwemmt werden.

Durch den ständigen Sog des Gastromaten wurde das Abfließen des Infundats durch den Pylorus weitgehend verhindert. Eventuelle Volumenverluste konnten unter Verwendung eines Multiplikationsfaktors (instilliertes zu aspiriertem Volumen) korrigiert werden. Dies wurde von CROFT untersucht (11).

1.2 Ausschluß der Instillationsproben

Zunächst wurden die kleinen Aspirationen 1, 2, 3 und 4, die 30 Minuten nach Instillation von 50 ml Kochsalz bzw. 40% Alkohol gewonnen worden waren, ebenfalls ausgewertet. Hier stellen jedoch folgende Störmöglichkeiten die Ergebnisse in Frage:

a) Zwar wurde auf eine möglichst komplette Aspiration der instillierten Volumina nach Ablauf der 30-Minuten-Periode besonders geachtet; dennoch fiel dabei auf, daß diese Volumina häufig sehr klein und im Durchschnitt niedriger lagen als in einer früheren Untersuchung, in der die Volumina nur während 15 Minuten im Magen verblieben waren (44). Das größere Zeitintervall hatte

hier offenbar zu einem größeren Verlust von Instillat durch Entleerung aus dem Magen geführt.

b) Auch sogbedingte Aciditäts- und Sekretionsänderungen fallen bei der geringen Menge von 50 ml stärker ins Gewicht als bei den Spülungen mit 1500 ml physiologischer Kochsalzlösung.

c) Dies gilt auch für die Restvolumina, die eventuell in dem Schlauchsystem der Sonde verblieben.

d) Außerdem kann mit einer Spritze der erzeugte Unterdruck nicht so konstant klein gehalten werden wie mit einem Gastromaten, was bewirkt, daß eventuell noch intakte Zellen aus ihrem Verband herausgelöst und aspiriert werden.

e) In den Proben 3 der Versuche I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) und II (nur Alkohol) befand sich der instillierte Alkohol. Diese Proben wurden zwar behandelt wie die anderen kleinen Proben, jedoch ist der Einfluß von Alkohol auf den physikalisch-chemischen Ablauf der DNA-P Bestimmung noch nicht untersucht worden.

1.3 Die physikalisch-chemische Ausarbeitung

Im Drüsenhalsbereich der Magenschleimhaut ist die Proliferationszone lokalisiert. Die Zellen wandern zur Schleimhautoberfläche und werden dort ins Lumen abgestoßen. STEVENS und LEBLOND (48) bestätigen hier einen ständigen "Zellturnover".

CROFT entwickelte ein Verfahren, um die Menge der pro Minute abgeschilferten Zellen bestimmen zu können. Dies läßt sich durch die Bestimmung der pro Minute abgewaschenen DNA zurückschließen, da jede menschliche Zelle die gleiche Menge DNA enthält (13, 14).

Durch das Einfrieren der Proben, das die Sedimentation bei der späteren Zentrifugation erleichtert, ergaben sich bei CROFT (11) keine Veränderungen.

Für die Bestimmung des DNA-Gehalts im Aspirat bei Anwesenheit von Sialinsäuren des Mundspeichels wurde die von CROFT beschriebene Modifizierung (12) der Diphenylaminreaktion nach BURTON (8) verwendet. Diese Modifikation besteht in der Erhöhung der Konzentration des Diphenylaminreagenzes auf 2% und in der Inkubation der Proben im Kühlschrank bei 6°C bis 13°C für 48 Stunden.

CROFT konnte dadurch eine Interferenz der Sialinsäuren mit der Farbreaktion ausschließen.

2. DNA

2.1 Mögliche Erhöhung der DNA-Werte durch Verunreinigung

Damit DNA von Zellen des Mundspeichels die Ergebnisse nicht beeinflusst, wurden das Nüchternmagensekret abgezogen und der Magen mit 50 ml-Portionen physiologischer Kochsalzlösung "gesäubert". Während der Untersuchung waren die Probanden gehalten, Würgen, Husten oder Verschlucken des Mundspeichels zu vermeiden.

DNA-haltige Bakterien könnten ebenfalls das Ergebnis verfälschen, jedoch ist die Menge an bakterieller DNA sehr gering im Vergleich mit der Menge, die eine menschliche Zelle enthält (11).

Bei zwei Versuchen wurden bei der Aspiration von Instillationsproben leichte Blutbeimengungen beobachtet. Zwar enthalten Erythrozyten keine DNA, doch wird das Ergebnis durch Leukozyten-DNA leicht verfälscht. Die kleinen Proben wurden jedoch für die statistische Berechnung nicht herangezogen (vergl. 1.2).

Auch der Rückfluß von Duodenalflüssigkeit nimmt durch darin enthaltene Zellen Einfluß auf den DNA-Gehalt. Es wurde jedoch versucht, den Reflux klein zu halten.

2.2 Mögliche Verluste von DNA

Ebenfalls in der Duodenalflüssigkeit enthaltene DNAase wurde durch Versetzen der Aspirate mit EDTA inaktiviert. Auch die Enzyme des Magensaftes, die intakte Zellen angreifen, wurden mit EDTA inaktiviert, die Denaturierung durch 30% Albuminlösung erleichtert (40).

Bei der Zellgewinnung durch Zentrifugation wurde ein Verlust von Zellen dadurch verhindert, daß nur klarer Überstand verworfen wurde. DUMMER (24) konnte nachweisen, daß bei dem Auskratzen der großen Zentrifugenbecher fast kein Zellmaterial verlorengeht.

3. Wirkungsweise des Serotoninantagonisten R 41 468

3.1 Beschreibung des Serotoninantagonisten R 41 468

mit Hilfe von Serotonin und seinen Wirkungen

Wichtig bei der Beurteilung der Versuche ist eine Diskussion von möglichen Wirkungen des Serotoninantagonisten R 41 468.

R 41 468 ist ein reiner Serotoninantagonist, d.h. es sind keine serotoninagonistischen Effekte beobachtet worden. Er ist ein selektiver Antagonist, da er nur 5-HT_2 Rezeptoren besetzt, und ein spezifischer Rezeptorenblocker, da er nicht die Wirkungen anderer Amine (Histamin, Noradrenalin u.a.) auf den 5-HT_2 Rezeptor blockiert (32). Serotonin ist ein Derivat der Aminosäure Tryptophan. Diese wird durch eine Hydroxylase zunächst in 5-Hydroxytryptamin (5-HT_2) und dann durch eine pyridoxal-phosphateabhängige Decarboxylase in das biogene Amin umgewandelt. D.h. also, daß der Serotoninantagonist eigentlich ein 5-Hydroxytryptaminantagonist ist. Im Säugetier findet man Serotonin in relativ hoher Konzentration im zentralen Nervensystem (Hypothalamus), in der Milz, Lunge und in den argentaaffinen Zellen des Darmtrakts. Serotonin übt Wirkungen auf die glatte Muskulatur der Gefäße,

des Respirationstraktes und des Magen-Darmkanals und auf die Blutplättchenaggregation aus (7). Darüberhinaus kann es auch die vasokonstriktiven und plättchenaggregierenden Effekte anderer Substanzen wie z.B. der Katecholamine verstärken (16, 53).

3.2 Wirkungen des Serotoninantagonisten R 41 468 im Tiermodell

Experimentelle serotonininduzierte Modellreaktionen sind z.B. arterielle und pulmonale Hypertension (52), Antidiurese (15) und Muskeldystrophie (57). Diese können durch Gaben von R 41 468 abgeschwächt bzw. verhindert werden.

Im Bezug auf das zentrale Nervensystem reduziert R 41 468 oral gegeben den REM-Schlaf bei Hunden und erhöht den Wachheitsgrad (32).

Bei Hunden, die drei Monate lang R 41 468 oral bekommen hatten, fand man eine verminderte Aktivität der Hauptzellen im Magen ohne histologische Veränderungen. Diese funktionelle Beeinflussung ging mit keinerlei degenerativer Alteration einher und wurde deshalb mit dem pharmakologischen Effekt von Serotoninantagonist

R 41 468 in Verbindung gebracht (30).

Auch bei Ratten, denen der Pylorus verschlossen worden war, verhinderte der Serotoninantagonist R 41 468 dosisabhängig die basale, nicht pentagastrininduzierte Magensäuresekretion (43). Dadurch wurden in beiden Fällen aggressive Faktoren im Magen vermindert; bei Hunden die Bildung von Pepsinen, bei den Ratten die Bildung von Magensäure.

Bei den bekannten Streßmodellen, die zur Ausbildung akuter Magenschleimhautläsionen führen, verhindert der Serotoninantagonist R 41 468 intraperitoneal bei Ratten Hyperämie und Ulzeration (38). Bei Schweinen wurden ebenfalls Ulzera verhindert, jedoch wurden diese Tiere nicht vor Läsionen in der squamösen Stratumepithelschicht der kardioösophagealen Mukosa bewahrt. Da diese Schäden wahrscheinlich durch Hypersekretion verursacht werden und da R 41 468 die Magensekretion bei Schweinen nicht reduziert, war dieses Ergebnis erwartet (50). Diese Beobachtung sprach dafür, daß der Schutz durch Serotoninantagonist R 41 468 der Zytoprotektion durch Prostaglandine, die ebenfalls säureunabhängig ist, nahekommt.

Irritation und Ulzera der Magenschleimhaut durch oral verabreichte Galle wurden bei Ratten durch vorherige orale Zufuhr von Serotoninantagonist R 41 468 vermindert (46).

Meerschweinchen wurden mit dem Serotoninantagonisten R 41 468 vor der Entwicklung von Magenläsionen, die anderenfalls durch 50% Alkohol intraperitoneal injiziert hervorgerufen wurden, bewahrt (53).

AWOUTERS et al und VAN REEMTS et al injizierten Ratten die Substanz 48/80, die vasoaktive Amine wie Histamin und Serotonin freisetzt. Die Ratten bildeten starke Veränderungen in der Durchblutung verschiedener Gefäßgebiete aus und verstarben im Schock. Wurden sie durch H_1 -Antagonisten davor bewahrt, zeigten sie dennoch die starke Durchblutung im Magen-Darmtrakt neben einer intensiven Aktivität der Magendrüsen. Damit war bewiesen, daß es sich bei der gastralen Wirkung von Serotonin um einen reinen $5-HT_2$ -Effekt handelte. Der vaskuläre Blutandrang im Rahmen dieses Modells ist hauptsächlich serotoninvermittelt. Oral verabreichter Serotoninantagonist R 41 468 verhinderte durch 48/80 induzierten intestinalen Blutandrang und Schäden in der

Drüsengegend des Magens. Der Schutz erfolgte ohne Einfluß auf den Magen-pH (2, 3, 55).

Die drei genannten Versuche zeigen, daß der Serotoninantagonist R 41 468 einen protektiven Effekt gegenüber bestimmten schädigenden Mechanismen auf die Magenschleimhaut dieser Tiere ausübt.

3.3 Wirkungen von Serotoninantagonist R 41 468 beim Menschen

3.3.1 Hypnotischer Effekt

Obwohl ansonsten keine Wirkungen vom zentralen Nervensystem beschrieben wurden, war der erwähnte hypnotische Effekt von R 41 468 während der Versuche auffällig. Auch JANSSEN gibt Müdigkeit bei 6 Personen nach intravenöser Applikation von Serotoninantagonist R 41 468 an (29). Die hypnotischen Effekte der vorliegenden Untersuchung konnten jedoch nicht quantifiziert werden. Darüber hinaus kann eine gewisse Befangenheit des Untersuchers nicht ausgeschlossen werden. Es empfiehlt sich daher, in weiteren Untersuchungen die hypnotische Wirkung von Serotoninantagonist R 41 468 durch Messung von REM-Schlafperioden mit Hilfe von EEG und Elektrookulogramm quantitativ zu erfassen.

3.3.2 Wirkungen auf Volumen- und Säuresekretion des Magens

Bei Patienten mit peptischen Ulzera hatte der Serotoninantagonist R 41 468 folgende Wirkung, wenn er einmal oral in einer Dosis von 40 mg appliziert wurde: Er erhöhte den basalen, nicht pentagastrinstimulierten pH-Wert des Magensaftes, verminderte die nicht pentagastrinstimulierte Säuresekretion sowie basales und pentagastrin-stimuliertes Magensaftvolumen (18).

3.3.3 Wirkungen auf die Ulkusheilung

In einer klinischen Studie wurde der Serotoninantagonist R 41 468 mit Cimetidine, einem H_2 -Antihistaminikum, das die Salzsäureproduktion des Magens hemmt, bei 25 Patienten mit Magenulkus und 25 Patienten mit Duodenalulkus verglichen. Sowohl die symptomatische Verbesserung, gemessen am Antacidaverbrauch und täglichen Schmerzen, die auf einer analogen Skala eingetragen wurden, als auch die Heilungsrate der Ulzera war mit Cimetidine signifikant größer. Der Serotoninantagonist R 41 468 eignet sich somit in dieser Weise nicht für die kurative Behandlung des peptischen Ulkusleidens (49), obwohl er gegenüber Placebo die Symptome Oberbauchbeschwerden,

Antacidaverbrauch und Herzbrennen verbesserte (19). Inwieweit dies z.B. durch den hypnotischen Effekt der Substanz erklärt werden könnte, läßt sich z.Z. noch nicht absehen.

3.3.4 Wirkungen auf die gastrale Potentialdifferenz

In einer weiteren Studie wurde die transmurale Potentialdifferenz des Magens und die gastrale Mukussekretion unter dem Einfluß des Serotoninantagonisten R 41 468 untersucht. Mukus- und Bikarbonatsekretion wurden nicht stimuliert. Jedoch erhöhte der Serotoninantagonist die basale Potentialdifferenz. Eine erhöhte Potentialdifferenz zeigt eine stabilere Zellmembran und somit erhöhte Schutzpotenz der Zellen an (4). In diesem Punkt verhält sich der Serotoninantagonist ähnlich wie Prostaglandin E_2 , dessen zytoprotektive Wirkung nachgewiesen worden ist (44).

Außerdem paßt der Effekt von R 41 468 auf die gastrale Potentialdifferenz zu der vorliegenden Untersuchung, bei der sich eine Hemmung der Zelldesquamationsrate ergab, wenn man voraussetzt, daß beide Phänomene eine Stabilisierung von Epithelzellfunktion und -verband signali-

sieren.

4. Interpretation der Ergebnisse

4.1 Wirkung des Alkohole auf die gastrale Epithel- zellabschilferungsrate

Die Schädigung der Magenschleimhautzellen durch die Noxe Alkohol wurde in Tierversuchen (25, 59) und auch in der vorliegenden Studie gezeigt. So stieg die Zelldesquamationsrate nach Alkohol sowohl im Placeboversuch II (höchster Anstieg), als auch in Versuch I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) signifikant an, während im Versuch III (Serotoninantagonist R 41 468 ohne Alkohol) nur ein geringer Anstieg zu verzeichnen war. Dieser Anstieg scheint darüber hinaus ein relativer zu sein, da der Wert unter der basalen Zellabschilferungsrate von Versuch III liegt und Spülung B (nach Serotoninantagonist) die geringste Zellturnoverrate enthielt.

Der Serotoninantagonist R 41 468 verhindert somit einen Teil der durch Alkohol provozierten Zellabschilferungsrate.

4.2 Die basale Epithelabschilferungsrate und ihre Bedeutung

Durch die Entleerung des Magens, das Spülen mit 50 ml-Portionen physiologischer Kochsalzlösung und die erste Instillation einer 50 ml-Portion physiologischer Kochsalzlösung (als Periode 1), war mit der Spülung A die basale Zellabschilferungsrate erfaßt worden. Dies läßt sich aus Versuch II (Placeboversuch) ersehen, in welchem die Spülperiode B (nach Placebogabe) die gleiche Zellabschilferungsrate wie A (nach Periode 1) aufwies. Nur Versuch II (Placeboversuch) eignet sich zur Beurteilung der basalen Zellabschilferungsrate, da in den Versuchen I und III vor der Periode B statt des Placebos die Wirksubstanz (R 41 468) verabreicht worden war.

Durch die Serotoninantagonistengabe wird in den Versuchen I (Serotoninantagonist R 41 468 und Alkohol) die basale Zellabschilferungsrate gesenkt und in den Versuchen III (nur Serotoninantagonist) sogar signifikant reduziert. Dieser Unterschied zwischen den Versuchen I und III ist jedoch nicht erklärbar, denn Versuch I und III sind bis einschließlich Periode B identisch aufgebaut. Dieser Abfall des "Zellturnovers" im Vergleich

zum Placeboversuch läßt vermuten, daß die Magenschleimhautzellen nach Verabreichung des Serotoninantagonisten R 41 468 besser haften und geschützt sind. Dieser "zytoprotektive Effekt" ist möglicherweise durch Hemmung der gastralen Säuresekretion zu erklären, die in der vorliegenden Untersuchung nicht getestet wurde. Da "Zytoprotektion" definitionsgemäß nur solche Protektionsvorgänge beschreibt, die nicht durch eine Hemmung der Säuresekretion bedingt sind, sind weitere Untersuchungen zur Klärung dieser Wirkung von Serotoninantagonist R 41 468 notwendig.

V Zusammenfassung

An sechs freiwilligen Probanden wurden je drei Versuche zur Klärung der Zytoprotektion von R 41 468, einem Serotoninantagonisten, an der Magenschleimhaut vorgenommen.

Versuch I: Intravenöse Injektion und Infusion von Serotoninantagonist R 41 468 mit nachfolgender Schädigung der Magenschleimhaut durch lokale Alkoholzufuhr.

Versuch II: Nur Schädigung durch lokalen Alkohol.

Versuch III: Nur Injektion und Infusion von Serotoninantagonist ohne Alkoholzufuhr.

In dem durch Magenwaschung gewonnenen Aspirat wurde die DNA als Maß für den Zellumsatz bestimmt.

Die Basalumsatzrate wurde durch Alkoholapplikation in den Magen auf über das Doppelte gesteigert. Dieser Anstieg der Zellabschilferung wurde um fast 50% vermindert, wenn R 41 468 vor der Alkoholgabe systematisch verabreicht wurde.

In der Versuchsreihe III (nur Serotoninantagonist) wurde sogar die Basalumsatzrate durch Injektion des

Serotoninantagonisten R 41 468 signifikant gesenkt.
In der Versuchsreihe I (Serotoninantagonist R 41 468
und Alkohol) war dieser Effekt zwar ebenfalls anzunehmen,
jedoch statistisch nicht zu sichern.

Diese Ergebnisse weisen auf eine Zytoprotektion hin,
könnten jedoch alternativ auch auf eine Hemmung der
gastralen Säureproduktion zurückzuführen sein.

Die während der Versuche beobachteten hypnotischen
Nebenwirkungen müßten durch adäquate Versuche gesichert
werden.

VI Literaturverzeichnis

1 Arabehty, J.:

R 41 468 in the treatment of ulcerative colitis.

Zwischenbericht.

Janssen Pharmaceutica, klinischer Forschungs-
bericht über R 41 468 Nr. 16, Januar 1980

2 Awouters, F.:

R 41 468: A unique antagonist of circulatory
congestion in the gastrointestinal tract.

Bericht auf der Grundlage eines Vortrags, Beersse,
25. Januar 1979

3 Awouters, F., Niemegeers, C.J.E., Janssen, P.A.J.:

R 41 468: A very potent, safe and selective in-
hibitor of gastric lesions in the rat.

Janssen Pharmaceutica, Fortgangsbericht, Oktober 1978

4 Bernschneider, S.:

Wirkungen des Serotonin-S₂-Antagonisten R 41 468
auf die Potentialdifferenz und Mukussekretion der

Magenschleimhaut beim Menschen.

Dissertation, Erlangen, im Druck

5 Bizzozero, G.:

Über die schlauchförmigen Drüsen des Magendarmkanals
und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächen-
epithel der Schleimhaut II.

Archiv. mikr. Anat. 40: 325-375, 1892

6 Bizzozero, G.:

Über die schlauchförmigen Drüsen des Magendarmkanals
und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächen-
epithel der Schleimhaut III.

Archiv. mikr. Anat. 42: 82-152, 1893

7 Buddecke, E.:

Grundriß der Biochemie

Walter de Gruyter, Berlin New York, 1977, S.350

8 Burton, K.:

A study of the conditions and mechanism of the
diphenylamine reaction for the colorimetric

estimation of deoxyribonucleic acid.

Biochem. J. 62: 315-323, 1956

9 Campbell, R.:

Statistische Methoden für Biologie und Medizin.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971

10 Croft, D.N.:

Cell turnover and loss and the gastric mucosal
barrier.

Am. J. Dig. Dis. 22: 383-386, 1977

11 Croft, D.N., Cotton, P.B.:

Gastro-intestinal cell loss in man.

Digestion 8: 144-160, 1973

12 Croft, D.N., Lubran, M.:

The estimation of deoxyribonucleic acid in the
presence of sialic acid: application to analysis
of human gastric washings.

Biochem. J. 96: 612-620, 1965

- 13 Croft, D.N., Pollock, D.J., Coghill, N.F.:

Cell loss from human gastric mucosa measured
by the estimation of desoxyribonucleid acid (DNA)
in gastric washings.

Gut 7: 333-343, 1966

- 14 Davidson, J.N., Leslie, I.:

The nucleid-acid content of the cell.

Lancet 16: 1287-1290, 1951

- 15 De Caro, X.:

R 41 468 and serotonin-induced anti-diuresis in rats.

Janssen Pharmaceutica, Vorklinischer Forschungs-
bericht über R 41 468, in Vorbereitung.

- 16 De Clerck, F., Van Gorp, L., Beerens, M., Wouters, L.:

Effects of R 41 468 on platelet aggregation in vitro,
and on haemostasis in the rat. Eine Pilotstudie.

Janssen Pharmaceutica, Vorklinischer Forschungs-
bericht über R 41 468 Nr. 11, Juni 1979

17 De Créé, J.:

An open pilot study of R 41 468 in the treatment of gastritis and oesophagitis.

Janssen Pharmaceutica, Klinischer Forschungsbericht Über R 41 468 Nr. 5, September 1979

18 De Créé, J., De Cock, W., Verhaegen, H.:

The effect of a single oral dose of 40 mg R 41 468 on basal and pentagastrin stimulated gastric secretion in 3 patients with peptic ulcer.

Janssen Pharmaceutica, Klinischer Forschungsbericht Über R 41 468 Nr. 2, März 1979

19 De Créé, J., De Cock, W., Verhaegen, H.:

The effect of R 41 468 on the clinical symptomatology of patients with peptic ulcer.

Janssen Pharmaceutica, Klinischer Forschungsbericht Über R 41 468 Nr. 1, März 1979

20 De Créé, J., Di Perri, T., Blum, A.L.:

R 41 468 in the treatment of ulcerative colitis.

Zwischendaten von Pilotstudien.

Janssen Pharmaceutica, Klinischer Forschungsbericht Über R 41 468 Nr. 7, September 1979

21 Demling, L.:

Sekretion, protektive Faktoren und ihre Beeinträchtigung.

In: Demling, L., Der kranke Magen.

Urban und Schwarzenberg, München Berlin Wien,
1970, S. 106-108

22 Di Perti, T., Laghi-Pasini, F.:

R 41 468 in the treatment of irritable bowel syndrome.

Zwischenbericht einer Pilotstudie.

Janseen Pharmaceutica, Klinischer Forschungsbericht
Über R 41 468 Nr. 30, November 1980

23 Domschke, W., Domschke, S., Classen, M., Demling, L.:

Die Bedeutung der gastralen Schleimstoffe in der Therapie.

Med. Welt 25: 493-494, 1974

24 Dummer, M.:

Prostaglandin E_2 : Dosis - Wirkung - Analyse seines
cytoprotektiven Effektes auf die Magenschleimhaut
beim Menschen.

Dissertation, Erlangen, im Druck

- 25 Eastwood, G.L., Kirchner, J.P.:

Changes in the fine structure of mouse gastric epithelium produced by ethanol and urea.

Gastroenterology 67: 71-84, 1974

- 26 Francois, Ph.:

A double-blind placebo-controlled cross-over study with R 41 468 in patients with chronic dumping syndrome.

Janessen Pharmaceutica, Klinischer Forschungsbericht
Über R 41 468 Nr. 9, September 1979

- 27 Hagel, J.:

Wirkungen von Carbenoxolon auf die Magenschleimproduktion im Vergleich zum "turnover" der Magenschleimhaut.

Dissertation, Erlangen, 1978

- 28 Ivey, K.J., Den Besten, L.:

Gastric volumes aspirated from antrum and fundus in man.

Am. J. Dig. Dis. 16: 123-126, 1971

29 Janssen, J., Hamoir, V.:

Open study with R 41 468 in the treatment of chronic, superficial gastritis.

Janssen Pharmaceutica, Klinischer Forschungsbericht
über R 41 468 Nr. 37, Februar 1981

30 Janssen Pharmaceutica

Oral toxicity study in beagle dogs.

Toxikologischer Forschungsbericht über R 41 468
Nr. 849, Oktober 1979

31 Janssen Pharmaceutica:

R 41 468: The first pure and selective serotonin S_2
blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 2. Ausgabe, September 1979

32 Janssen Pharmaceutica:

R 41 468: The first pure and selective 5-HT₂ receptor
blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 5. Ausgabe, Januar 1981

- 33 Kaess, H.:

Erkrankungen des Magens.

In: Schettler, G., Innere Medizin. Ein kurz-
gefaßtes Lehrbuch, Band II: 352-375

Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1976

- 34 Krasner, N., Thomson, T.J., Creen, G., McNeil, C.:

Gastric epithelial cell turnover after acute and
chronic alcohol ingestion.

Gut 15: 336, 1974

- 35 Leonhardt, H.:

Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1977, S. 369-372

- 36 Lipkin, M., Sherlock, P., Bell, B.:

Cell proliferation kinetics in the gastrointestinal
tract of man.

Gastroenterology 45: 721-729, 1963

- 37 Lods, J.C.:

Etude ouverte du R 41 468 dans le traitement
des epigastralgies.

Janssen Pharmaceutica, Klinischer Forschungs-
bericht über R 41 468 Nr. 27, 1e Brun, Oktober 1980

- 38 Masters, N.H., Hinder, R.A., Hamilton, D.G., Blair, B.A.:

The influence of a serotonin antagonist (R 41 468) on
the gastric mucosal changes in a rat restraint model.
University of Winiwatersrand, Johannesburg, April 1978

- 39 Miller, T.A., Jacobson, E.D.:

Gastrointestinal cytoprotection by prostaglandins.
Gut 20: 75-87, 1979

- 40 Ottenjann, R.:

Die Zytodiagnostik des Magens.
In: Demling, L., Der kranke Magen.
Urban und Schwarzenberg, München Berlin Wien,
1970, S. 78-79

- 41 Peroutka, S.I., Synder, S.H.:

Multiple serotonin receptors: differential binding of $[^3\text{H}]$ -5-hydroxytryptamine, $[^3\text{H}]$ -lysergic acid and $[^3\text{H}]$ -spiroperidol.

Mol. Pharmacol, 16: 687-699, 1979

- 42 Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C., Hancher, A.J.:

Cytoprotection by prostaglandins in rats.

Gastroenterology 77: 433-443, 1979

- 43 Rosenthale, M.E., Shriver, D.A.:

Pylorus ligation studies of gastric secretion in the rat and its inhibition by R 41 468.

Bericht im Dezember 1978.

In: Janesen Pharmaceutica, R 41 468: The first pure and selective 5-HT₂ receptor blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 5. Ausgabe, Januar 1981

- 44 Ruppin, H., Person, B., Andre R., Domschke, W.:

Gastric cytoprotection in man by prostaglandin E₂.

Scand. J. Gastroenterology 16: 647-652, 1981

- 45 Schlotthauer, B., Möller, H.G.:

Ergebnisverfälschung bei den Magenuntersuchungen
bedingt durch die Schlauchtechnik.

Münch. med. Wschr. 106: 785-789, 1964

- 46 Senault, B.:

Persönliche Kommunikation.

In: Janssen Pharmaceutica, R 41 468: The first pure
and selective 5-HT₂ receptor blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 5. Ausgabe, Januar 1981

- 47 Senault, B.:

Unveröffentlichte Ergebnisse.

In: Janssen Pharmaceutica, R 41 468: The first pure
and selective serotonin S₂ blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 2. Ausgabe, September 1979

- 48 Stevens, C.E., Leblond, C.P.:

Renewal of the mucous cells in the gastric mucosa
of the rat.

Anat. Rec. 115: 231-243, 1953

49 Symcens, I.:

Unveröffentlichte Ergebnisse.

In: Janssen Pharmaceutica, R 41 468: The first pure
and selective serotonin S_2 blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 2. Ausgabe, September 1979

50 Van Cauteren, H., Geerts, H., Symoens, J.:

The prophylaxis of stress ulcers in pigs with
R 41 468.

Vorklinischer Forschungsbericht über R 41 468,
August 1980

51 Van Cauteren, H., Symoens, J.:

Unveröffentlichte Ergebnisse.

In: Janssen Pharmaceutica, R 41 468: The first pure
and selective serotonin S_2 blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 2. Ausgabe, September 1979

52 Van Gerven, W., d'Aubioul, I., Wouters, L., Xhonneux, R.:

R 41 468 in the unanaesthetized dog: cardiovascular
effects and interaction with serotonin.

Janssen Pharmaceutica, Vorklinischer Forschungs-
bericht über R 41 468 Nr. 2, März 1979

- 53 Van Nueten, J.M., Van Beek, J., Xhonneux, R.,
Verbeuren, T.I., Vanhoutte, P.M., Janssen, P.A.J.:

Vascular effects of R 41 468, a novel antagonist
of 5-HT₂ serotonergic receptors.

The journal of pharmacology and experimental
therapeutics 218: 217-230

- 54 Van Nueten, J.M., Vanhoutte, P.M., Janssen, P.A.J.:

R 41 468, the first pure and selective serotonin S₂
receptor antagonist.

Janssen Pharmaceutica, Vorklinischer Forschungs-
bericht über R 41 468 Nr. 3, März 1979

- 55 Van Reempts, J., Borgers, M., Awouters, F., Xhonneux, R.:

Light and electron microscopic observations by compound
48/80-induced gastric ulcerations in the rat and on
the protective effects of R 41 468.

Janssen Pharmaceutica, Vorklinischer Forschungsbericht
über R 41 468 Nr. 5, März 1979

- 56 Van Reempts, J., Borgers, M., Xhonneux, R.,
Van Eyndhoven, J., de Reese, R.:

Evaluation of R 41 468 on serotonin induced gastric
lesions in rats.

Janssen Pharmaceutica, Vorklinischer Forschungs-
bericht über R 41 468 Nr. 9, Juli 1979

- 57 Verheyen, A., Vlamincx, E., Remeysen, P., Borgers, M.:

The influence of R 41 468, a new 5-HT₂-receptor
antagonist on experimentally induced skeletal
muscle dystrophy in the rat.

Fertig zur Veröffentlichung.

In: Janssen Pharmaceutica, R 41 468: The first pure
and selective 5-HT₂ receptor blocking agent.

Broschüre des Erfinders, 5. Ausgabe, Januar 1981

- 58 Waldeck, F.:

Funktion des Magen-Darmkanals.

In: Schmidt, R.F., Thew S.G., Physiologie des Menschen.

Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1977,

S. 583-605

59 Willems, M.D., Vansteenkiste, Y., Smets, P.H.:

Effects of ethanol on the cell proliferation
kinetics in the fundic mucosa of dogs.

Am. J. Dig. Dis. 16: 1057-1063, 1971

Hiermit danke ich Herrn Priv.Do. Dr.med.Hans Rupp
für die freundliche Überlassung des Themas und für die
Betreuung während der gesamten Arbeit. Herrn Dr. Hagel
danke ich für die Unterstützung während der Versuche,
Frau Kanczarek und Fräulein Britschau für die Hilfe
bei der chemischen Bearbeitung und meiner Mutter für
das Tippen der Arbeit.

VII Lebenslauf

Personalien: Name	Hanna Käthe Roßberg, geb. Dunkel
geboren	19.2.1957 in München
Eltern	Ferdinand Dunkel, Studiendirektor Marianne Dunkel, geb. Hauer, Hausfrau
Ausbildung: 1963 - 1967	Volkschule in Pegnitz
1967 - 1976	Mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium in Pegnitz
Juni 1976	Abitur
ab Wintersemester 1976	Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
August 1978	Ärztliche Vorprüfung
August 1979	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
März 1982	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
16.5.1983	3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
24.5.1983	Approbation
Heirat: 18.7.1983	mit Bernd Roßberg, Arzt
Beruf: ab 1.10.1983	Ärztin in der Allgemein Chirurgie, Stadt- und Kreis Krankenhaus Kulmbach

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30

Tel. 09131-26197